Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 1, Spring 2024, p. 101-115

The Effect of Nanoparticle Graphene Oxide on Micropropagation and In Vitro Microtuberization in Potato (*Solanum tuberosum* cv. Agria)

F. Abdollahi[1], A. Motallebi-Azar[2]*, G. Gohari[3], B. Dehdar[4], A. Kahnamoii[5], F. Shariat[5]

1 and 2- M.Sc Student and Associte Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: Motallebiazar@gmail.com)
3- Associte Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
4- Academic Staffs, Research Center of Agriculture and Natural Resources of Ardabil Province, Ardabil, Iran
5- M.Sc Student, Department of Biothechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Received: 18-12-2022 Revised: 16-06-2023 Accepted: 24-06-2023 Available Online: 25-06-2023	**How to cite this article:** Abdollahi, F., Motallebi-Azar, A., Gohari, G., Dehdar, B., Kahnamoii, A., & Shariat, F. (2024). The effect of nanoparticle graphene oxide on micropropagation and in vitro microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* cv. Agria). *Journal of Horticultural Science*, *38*(1), 101-115. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.80099.1217

Introduction

Grapheneis one of the new carbon nanomaterial that has unique physical properties and potentially important biological applications. Nanosheet Graphene Oxide has shown great potential to improve plant performance in various areas. Microtuber production technology is also used as a tool to reduce the time needed to produce economic plant resources, increase the quality of seed tubers, and produce microtubers throughout the year. The aim of this study was to evaluate the effect of Nanosheet Graphene Oxide on the improvement of micropropagation and microtuberazation in potato var. Agria under in vitro conditions.

Materials and Methods

Single node explants obtained from in vitro virus-free plantlet (maintained in tissue culture laboratory, Department of Horticultural science, University of Tabriz) were cultured into modified Murashige and Skoog (MS) medium containing four concentrations of Nanosheet Graphene Oxide (0, 25, 50 and 75 mg/L) carried out in the completely randomized design (CRD) with four replications and kept at 25±2 degree centigrade and a photoperiod of 16 hours of light. The proliferation traits such as leaf length, leaf width, plantlet fresh weight, number of leaves and shoots were recorded. Then, single node explants were transferred to Murashige and Skoog (MS) medium with four concentrations of Nanosheet Graphene Oxide (0, 25, 50 and 75 mg/liter) and kept for two months in complete darkness and at 18±2 ºC and microtuber production indices such as microtuber number, diameter, length and weight, microtuberization percentage, shoot length, microtuber with dormancy were measured.

Results and Discussion

The results of analysis of variance showed that different concentrations of Nanosheet Graphene Oxide had a significant effect on all traits in proliferation and microtuberization stages. Among different levels of Nanosheet Graphene Oxide, application of 75 mg/L showed the best response for leaf length, leaf width, and plantlet fresh weight, followed by 50 mg/L for the number of leaves and shoots, and lastly, 25 mg/L for shoot length. At a

https://doi.org/10.22067/jhs.2023.80099.1217

concentration higher than 50 mg/L (75 mg/L graphene oxide), the number of leaves not only remained constant but also showed a decreasing trend. Effect of different NGO concentrations on the shoot length showed that there was no significant difference between different concentrations of NGO and the shoot length remained constant, but the difference between the control treatment and NGO was significant. The maximum shoot length was obtained at a concentration of 25 mg/l NGO. The different concentrations of NGO had significant effect on all microtuberization traits at 1% probability level. Mean comparison results for different concentrations of NGO showed that the highest value of the microtuber length, diameter and number were obtained at 25 mg/liter NGO. However, all microtuber traits were not increased at above 25 mg/liter NGO. With the increase in NGO concentrations, the yield of microtuber weight and microtuberization rate remain constant, and it is also possible that these traits will decrease significantly with the increase NGO concentration. The highest yield of microtuber weight and microtuberization rate were obtained at the 25 mg/L NOG, and higher concentrations did not increase them. There was a significant difference between different concentrations of NGO and the control treatment in the number of lateral shoots, so that the maximum number of lateral shoots was obtained at a concentration of 25 mg/L of NGO. Also, concentrations above 50 mg/L of NGO had less effect on the number of lateral shoots and with increasing concentration, the number of shoots decreased significantly. The maximum microtuber weight was obtained at high concentrations of NGO. In other words, with the increase of NGO concentration, the microtuber weight increased, and the most effective concentration was 75 mg/L of NGO for this trait. Although all concentrations of NGO are favorable for this purpose, it is possible that the concentration of 25 mg/l is the most NGO concentration.

Conclusion

The results of this research showed that the of 50 and 75 mg/L of Nanosheet Graphene Oxide were the best concentrations micropropagation and microtuberization. 25 mg/L of Nanosheet Graphene Oxide was most efficient concentration . Although these experiments were performed without the use of growth regulators, the addition of Nanosheet Graphene Oxide to the medium increased micropropagation and microtuberization. Therefore, Nanosheet Graphene Oxide can be used as a tool for efficient micropropagation and increasing the quantity and quality seed tubers.

Keywords: Microtuber, Nanoparticles, Potato, Propagation, Tissue culture

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۱، بهار ۱٤۰۳، ص. ۱۱۵-۱۰۱

تأثیر نانوورقه گرافن‌اکسید بر پرآوری و ریزغده‌زایی درون شیشه‌ای در سیب‌زمینی رقم آگریا

فرزاد عبدالهی[۱]- علیرضا مطلبی آذر[۲]*- غلامرضا گوهری[۳]- بهرام دهدار[٤]- امیر کهنمویی[۵]- فاطمه شریعت[۵]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۳

چکیده

گرافن، نوع جدیدی از نانومواد برپایه کربن است که دارای خواص فیزیکی منحصر به فرد بوده و کاربردهای بیولوژیکی بالقوه مهمی دارا می‌باشد. نانوورقه گرافن‌اکسید (NGO)[۶] پتانسیل زیادی در جهت بهبود عملکرد گیاهان در زمینه‌های مختلف نشان داده است. از تکنولوژی تولید ریزغده نیز به‌عنوان ابزاری برای کاهش زمان لازم به‌منظور تولید منابع اقتصادی گیاه، افزایش کیفیت غده‌های بذری و تولید ریزغده در تمام طول سال استفاده می‌شود. هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر NGO بر بهبود پرآوری و ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط درون‌شیشه‌ای بود. بدین منظور ریز نمونه‌های تک گره حاصل از گیاهچه‌های درون شیشه‌ای عاری از ویروس روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ تغییر یافته (MS)، دارای چهار غلظت نانوورقه گرافن‌اکسید (NGO) (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر) در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار کشت و نگهداری شد و شاخص‌های پرآوری یادداشت‌برداری شد. سپس ریز نمونه‌های تک گره به محیط‌کشت MS با چهار غلظت NGO (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر) انتقال یافت و به مدت دو ماه در شرایط تاریکی کامل نگهداری شدند، سپس شاخص های تولید ریزغده اندازه‌گیری شد. نتایج آزمایش نشان داد که غلظت‌های مختلف NGO در هر دو مرحله پرآوری و ریز غده‌زایی، تأثیر معنی‌داری بر روی همه صفات داشت. بین غلظت‌های مختلف NGO، ۷۵ میلی‌گرم برلیتر غلظت ایده‌آل برای برخی از صفات پرآوری از جمله طول و عرض برگ و وزن‌ترگیاهچه بود. تعداد برگ و ظهور شاخساره نیز به‌ترتیب در غلظت‌های ۵۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO تحت تأثیر اثرات مثبت آن قرار گرفتند. کاربرد ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO، بهترین غلظت برای تمام صفات ریزغده‌زایی بجز وزن ریزغده بود. اگرچه این آزمایش بدون استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد انجام شد اما افزودن NGO به محیط‌کشت موجب افزایش عملکرد پرآوری و ریزغده‌زایی گردید. نتایج این پژوهش نشان داد، غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO ایده‌آل‌ترین غلظت برای مرحله پرآوری و ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO مطلوب‌ترین در مرحله ریزغده‌زایی می‌باشند. بنابراین می‌توان NGO را به‌عنوان ابزاری برای ریزازدیادی کارآمد و افزایش کمیت و کیفیت غده‌های بذری سیب زمینی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: پرآوری، ریزغده، سیب زمینی، کشت بافت، نانوذرات

مقدمه

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.)[۷] به‌دلیل داشتن مقادیر بالای نشاسته، پروتئین و سایر موادمغذی مهم در غده‌ها یکی از محصولات مهم کشاورزی در سراسر جهان است (Abelenda *et al.*, 2019). طبق آمار سازمان فائو تولید جهانی سیب‌زمینی در سال ۲۰۲۲ بیش از۳۷۶ میلیون تن بوده است (FAO, 2022). امروزه تولید

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Motallebiazar@gmail.com)
۳- دانشیارگروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه
۴- عضو هیات علمی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، اردبیل، ایران
۵- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

https://doi.org/10.22067/jhs.2023.80099.1217

6- Nano Graphene Oxide Sheet
7- *Solanum tuberosum* L.

ریزغده‌ها (میکروتیوبرها)[1] به یکی از روش‌های تکثیر سریع در تولید و پرآوری غده‌های بذری و مبادله ژرم‌پلاسم تبدیل شده است. با این حال، سیب‌زمینی مستعد ابتلا به بیماری‌های ویروسی و قارچی است که همین امر باعث از دست رفتن عملکرد و کاهش کیفیت محصول می‌شود (Chen *et al.*, 2018). مؤثرترین راه برای مبارزه با بیماری‌های ویروسی، حذف ویروس‌ها با استفاده از روش‌های مختلف و نهایتا تولید غده‌های عاری از ویروس می‌باشد. یکی از راهکارهای مؤثر در این زمینه تولید گیاهچه‌های عاری از عوامل بیماری‌زا با استفاده از روش کشت‌بافت می‌باشد (Hoque *et al.*, 2010).

کشت بافت گیاهی که در آن انبوهی از گیاهان دارای ساختار ژنتیکی یکسان بدست می‌آید (Al- Safadi *et al.*, 2000) به‌عنوان روشی سریع در پرآوری گیاهان و برنامه‌های گواهی بذر در سیب‌زمینی استفاده می شود (Coleman *et al.*, 2001). ریزغده‌زایی در شرایط درون شیشه‌ای برای نخستین بار با کشت تک‌جوانه جانبی صورت گرفت که منجر به تولید غده‌های بذری عاری از ویروس گردید (Gopal *et al.*, 2004). پرآوری و ریزغده‌زایی به‌عنوان روشی سریع در پرآوری گیاهان و برنامه‌های گواهی بذر (Al- Safadi *et al.*, 2000) برای حل کردن مشکلات پاتولوژیکی در سیب‌زمینی استفاده می‌شوند (Coleman *et al.*, 2001) نقش تنظیم‌کننده‌های رشدی از جمله سیتوکنین‌ها در کشت‌بافت گیاهی بسیار چشمگیر می‌باشد. اما اخیرا استفاده از نانوذرات در زمینه‌های مختلف علم کشاورزی جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده است (Maliki *et al.*, 2017). ترکیب دو هورمون 2,4-D و BAP با یکدیگر باعث افزایش تعداد، قطر و وزن ریزغده‌ها گردید. همچنین نتایج نشان داد که بالاترین عملکرد برای همه صفات از تیمار ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی تا زمان تولید اولین ریزغده و سپس تاریکی کامل بدست آمد (Bolandi *et al.*, 2013). در تحقیق دیگر صفاتی نظیر سرعت و درصد جوانه‌زنی، میانگین طول جوانه، تعداد جوانه‌های فعال، وزن غده‌ها، بطور معنی داری تحت تأثیر تیمار هورمونی و دمایی قرار گرفتند. در خصوص سرعت و درصد جوانه‌زنی تحت تیمارهای هورمونی، تفاوت معنی‌داری بین هورمون‌ها مشاهده نشد (Sasani et al., 2010).

یکی از مهم‌ترین کاربردهای فناوری نانو در زمینه‌ها و گرایش‌های مختلف کشاورزی، استفاده از نانوذرات در کشت بافت گیاهی و تغذیه گیاهان به‌خاطر نفوذ سریع و راحت آنان به درون غشای‌سلولی می‌باشد. اخیرا نقش مثبت نانوذرات در القاء کالوس، اندام‌زایی، جنین‌زایی سوماتیکی، تنوع سوماکلونال، انتقال ژن و تولید متابولیت‌های ثانویه به اثبات رسیده است (Mahendran *et al.*, 2019). استفاده از مواد نانوکامپوزت در افزانش تعداد ریزغده و کاهش رشد رویشی شاخساره سیب‌زمینی در کشت درون‌شیشه‌ای رقم آگریا مؤثر واقع شده است (Mahmodi Soreh *et al.*, 2023).

نانوورقه گرافن جدیدترین عضو خانواده موادکربنی گرافیتی چند بُعدی می‌باشد که شامل فولرن به‌عنوان نانو ماده‌ی صفر بُعدی (0D)، نانولوله‌های‌کربنی به‌عنوان نانوماده‌ی تک‌بُعدی (1D) و گرافیت به عنوان یک ماده‌ی سه‌بُعدی (3D) می‌باشد (Pumera *et al.*, 2010). اکسید گرافن (GO)[2] یکی از اعضای مهم خانواده گرافن، شکل اکسید شده گرافن است که حاوی گروه‌های اپوکسی، هیدروکسیل و کربوکسیل است (Georgakilas *et al.*, 2015). این گروه‌ها به GO اجازه می‌دهند تا ویژگی‌های بهتری نسبت به سایر مشتقات گرافن (به عنوان مثال، هالیدها یا آمیدها) داشته باشد و این ویژگی‌های GO شامل پایداری فیزیولوژیکی، زیست‌سازگاری و آب‌دوستی است (Chen *et al.*, 2017). پیشنهاد شده است که غلظت مناسب GO ممکن است منجر به اثرات مثبت آن شود. همچنین هنگام استفاده از گرافن اکسید در کشاورزی بایستی اندازه ذرات آن مورد توجه قرار گیرد.

معمولاً نانوموادی که دارای ضخامت کمتر از ۵۰ نانومتر هستند می توانند با عبور از موانع بیولوژیکی گیاهان (مانند دیواره سلولی) و ورود به بافت‌های آوندی مسیر جدیدی را برای انتقال بیوملکول‌ها، موادمغذی و آفت‌کش‌ها به گیاهان فراهم کنند (Kah *et al.*, 2019).

NGO دارای ضخامت کمتر از ۱۰ نانومتر می‌توانند از ریشه‌ها به ساقه اصلی انتقال پیدا کنند و وارد سیتوپلاسم و کلروپلاست گیاه شوند (Chen *et al.*, 2018). سایر مطالعات نشان دادند که NGO گرافن به راحتی توسط ریشه‌ها جذب می‌شود و در تارهای کشنده و سلول‌های پارانشیم ریشه تجمع می‌یابد ولی نمی‌توانند به اندام‌های هوایی گیاه انتقال یابند (Chen *et al.*, 2017). این نانوصفحات می‌توانند به بافت های گیاهی و سلول‌ها وارد شده و بر سیستم آنتی‌اکسیدانی (Moller *et al.*, 2007) و متابولیسم سلولی گیاهی تأثیر بگذارند (Hu *et al.*, 2014).

گرافن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش داده و بیان ژن های مسیر تنفس را القا می‌کند که این امر منجر به افزایش عملکرد تنفسی میتوکندریایی و افزایش رشد ریشه گیاه می‌شود. در مقابل، ممانعت از بیان ژن‌ها در این مسیرها باعث مهار رشد ریشه‌های گیاه و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و همچنین تضعیف تنفس می‌شود که نهایتا منجر به کاهش طول ریشه می‌شود (Chen *et al.*, 2022). براساس مطالعات گذشته تأثیر نانوصفحات گرافن اکسید بر گیاهان وابسته به غلظت، زمان و گونه گیاهی است (Cheng *et al.*, 2016).

1- Microtuber

2- Graphene Oxide

در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر گرافن محتوای یون‌های آمونیوم (NH^+_4) و پتاسیم (K^+) در خاک اطراف ریشه گیاهان ذرت *Z. mays*[۱] و باقلا (*Vicia faba*) [۲] افزایش یافت (Delker *et al.*, 2008; Pots *et al.*, 1999). غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر گرافن به‌طور قابل توجهی طول و حجم ریشه گیاه ذرت را افزایش داد (Delker *et al.*, 2008). همچنین GO ویژگی‌های مورفولوژیکی ریشه‌ها را در آلوئه ورا *Aloe*[۳] sp. بهبود بخشید (Simm *et al.*, 2016) و به‌طور قابل توجهی ریشه های موبین گیاه گوجه‌فرنگی را نیز افزایش داد (Wu *et al.*, 2016). غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر GO باعث افزایش تعداد ریشه‌های نابجا در گیاه تنباکو شد (Jiao *et al.*, 2016).

مطالعات نشان داده است که اثرات مثبت تیمار GO با سطوح اسید ایندول استیک IAA[۴] مرتبط است (Guo *et al.*, 2021; Jiao *et al.*, 2016). مشخص شد که GO با تأثیر بر مسیر IAA در گوجه‌فرنگی، رشد ریشه را تقویت می‌کند(Jiao *et al.*, 2016). غلظت‌های پایین GO (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) با افزایش محتوای اکسین در ریشه به‌طور قابل توجهی سبب رشد گیاه بالغ گوجه‌فرنگی شده و افزایش غلظت به ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تأثیر معنی‌داری بر قطر و وزن ساقه نداشت (Guo *et al.*, 2021). احتمالا افزایش ریشه پس از تیمار با GO به‌دلیل فعال شدن سلول‌ها و شروع تقسیم سلولی است (Guo *et al.*, 2021; Jiao *et al.*, 2016). غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر GO منجر به افزایش سطح رونوشت mRNA های مختلف ایندول استیک اسید مانند (IAA_3[۵])، (IAA_4)[۶]، (IAA_7)[۷]، (ARF_2)[۸] و (ARF_8)[۹] شد که در نتیجه رشد ریشه‌های نهال توتون را افزایش داد (Jiao *et al.*, 2016). GO با بهترین بازده در ۵۰ میلی‌گرم در لیتر می‌تواند اثرات مثبتی بر رشد گیاه آلوئه ورا با افزایش ظرفیت فتوسنتزی برگ‌ها، عملکرد و ویژگی‌های مورفولوژیکی و بهبود محتوای پروتئین و اسید آمینه برگ‌ها داشته باشد (Zhang *et al.*, 2021).

غلظت بالای گرافن می‌تواند از رشد و نمو گیاهان جلوگیری کند (Noh *et al.*, 2010). به‌عنوان مثال، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر گرافن رشد و نمو گیاهان باقلا *Vicia faba* را مهار کرد (Pots *et al.*, 1999). غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر گرافن منجر به تجمع زیادی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[۱۰] در ریشه گوجه‌فرنگی، اسفناج قرمز و کلم شد و در نهایت از رشد این گیاهان جلوگیری کرد (Beguem *et al.*, 2011). غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر گرافن رشد و نمو ریشه برنج را سرکوب و زیست‌توده گیاهی را کاهش می‌دهد (Liu *et al.*, 2015). نتایج فوق بیان می‌کند که غلظت‌های بالای گرافن ممکن است باعث استرس اسمزی قوی در سلول‌های گیاهی و از دست دادن آب تا مرگ آنها شود.

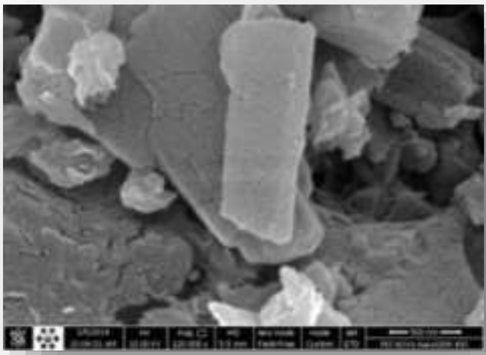
به‌علت نتایج ضد و نقیضی که درباره تأثیر NGO به‌عنوان یکی از مهمترین و جدیدترین اجزای خانواده نانومواد کربنی بر گیاهان وجود دارد، در این مطالعه تأثیر NGO به‌عنوان ماده مؤثر در تولید شاخساره‌ها، برگ‌های قوی و ایجاد کننده تنش برای تحریک ترکیبات دخیل در فرآیند ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط درون شیشه‌ای بررسی شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور مطالعه تأثیر غلظت‌های مختلف NGO بر پرآوری و ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط درون شیشه‌ای، آزمایش حاضر در آزمایشگاه کشت‌بافت گیاهی و ریزازدیادی گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه تبریز اجرا شد. در این آزمایش از گیاهچه‌های سالم و عاری از ویروس سیب‌زمینی (رقم آگریا) که به‌صورت درون شیشه‌ای در ایستگاه تحقیقات کشاورزی اردبیل تولید شده بودند استفاده گردید. بدین منظور گیاهچه‌های جوان و یکنواخت از نظر رشدی، در شرایط کاملا سترون و در زیر دستگاه هود استریل از داخل ظروف‌کشت خارج شدند و پس از حذف ریشه و برگ‌ها، به قطعات کوچک به‌طوری که در هر قطعه یک تک جوانه جانبی وجود داشت تقسیم شدند.

به‌منظور سنتز GO، گرافن در حضور نیتریک اسید[۱۱] و سولفوریک اسید[۱۲] اکسید شده (شکل ۱) و با استفاده از امواج التراسونیک لایه‌های گرافنی پخش شده و به‌صورت تک صفحات گرافن اکسید در محلول پراکنده شدند (Eftekhary *et al.*, 2016). در این مطالعه، اثر افزودن غلظت‌های مختلف NGO به محیط‌کشت MS تغییریافته بر پرآوری و ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا حاصل از تک‌جوانه جانبی بررسی گردید.

1- *Zea mays* L.
2- *Vicia faba*
3- *Aloe vera*
4- Indole-3-acetic acid
5- Auxin-responsive protein IAA3
6- Auxin-responsive protein IAA4
7- Auxin-responsive protein IAA7
8- Auxin Response Factor 2
9- Auxin Response Factor 8
10- Reactive oxygen species
11- HNO_3
12- H_2SO_4



شکل ۱- صفحات اکسید شده گرافن با نیتریک اسید و سولفوریک اسید
Figure 1- Oxidized graphene sheets with nitric acid and sulfuric acid

آزمایش اول: تأثیر نانوورقه گرافن‌اکسید بر ریزازدیادی (پرآوری) سیب‌زمینی رقم 'آگریا' در شرایط درون شیشه‌ای

آزمایش بصورت ساده در قالب طرح کاملا تصادفی طراحی و اجرا شد. طی این آزمایش چهار سطح NGO شامل صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر بر پرآوری سیب‌زمینی رقم آگریا' مورد مطالعه قرارگرفت. بدین‌ترتیب این آزمایش با ۴ تیمار در قالب طرح کاملا تصادفی و به‌مدت یک ماه اجرا گردید. برای این آزمایش از محیط‌کشت بر پایه MS تغییر یافته (Murashige & Skoog 1962) با ویتامین های B_5 و ۲۰ گرم در لیتر ساکارز استفاده شد. هر شیشه محتوی ۴۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت به همراه غلظت‌های تعیین شده از NGO بود. در هر شیشه ۴ عدد ریزنمونه حاوی تک‌جوانه جانبی کشت شد که برای هر تیمار ۴ تکرار وجود داشت. پس از کشت کلیه نمونه‌ها به اتاقک رشد با شرایط ۱۶ ساعت نور (۶۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. شش هفته پس از کشت ریزنمونه‌ها برای صفات پرآوری از جمله؛ تعداد برگ، طول و عرض برگ، طول شاخساره، تعداد شاخساره جانبی، وزن تر گیاهچه مورد بررسی و اندازه‌گیری قرار گرفتند.

آزمایش دوم: تأثیر نانوورقه گرافن‌اکسید بر ریزغده‌زایی سیب زمینی رقم آگریا' در شرایط درون شیشه‌ای

در این آزمایش از گیاهچه‌های تولیدی در آزمایش اول که از لحاظ پارامترهای رشدی بسیار قوی بودند به‌منظور ریزغده‌زایی استفاده گردید. ابتدا ریزنمونه‌ها به‌منظور تکثیر در شرایط مشابه با آزمایش اول کشت شدند. ۲۸ روز پس از تکثیر گیاهچه‌ها به ریزنمونه حاوی تک جوانه جانبی تقسیم و در محیط‌کشت ریزغده‌زایی که شامل MS تغییریافته با ۸۰ گرم ساکارز و غلظت‌های معین NGO بود کشت شدند. این آزمایش نیز با ۴ تیمار و ۴ تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی به مدت ۷۰ روز اجرا گردید. پس از کشت، ریزنمونه‌ها به شرایط تاریکی کامل منتقل شدند. در هفته دهم پس از غده‌زایی نسبت به برداشت ریزغده‌ها اقدام شد. در آزمایش ریزغده‌زایی صفاتی نظیر؛ تعداد ریزغده، درصد ریزغده‌زایی (تعداد ریزغده تولیدی در هر واحد آزمایش بر تعداد کل ریزنمونه‌ها)، وزن ریزغده، عملکرد وزنی ریزغده، طول و قطر ریزغده‌ها، طول جوانه حاصل از ریزغده، درصد ریزغده‌های بدون خواب (تعداد ریزغده دارای جوانه رشد یافته در هر واحد آزمایشی بر تعداد کل ریزغده)، درصد جوانه‌زنی و سرعت ریزغده‌زایی (تعداد ریزغده تولیدی در هر واحد آزمایش بر مدت زمان لازم برای تشکیل ریزغده) مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

آزمایش اول: تأثیر نانوورقه گرافن‌اکسید بر ریزازدیادی (پرآوری) سیب‌زمینی رقم 'آگریا' در شرایط درون شیشه‌ای

به‌منظور بررسی تأثیر NGO بر رشد و نمو گیاه سیب زمینی رقم آگریا'، تعداد برگ، طول و عرض برگ، تعداد شاخساره، درصد ظهور شاخساره جانبی و وزن تر گیاه در طی یک ماه هر هفته اندازه‌گیری شد.

همانطور که نتایج مقایسه میانگین در جدول ۱ نشان می دهد تیمار NGO بر تمامی صفات مورد ارزیابی بیشترین تأثیر را نسبت به تیمار شاهد داشته به‌طوری‌که بیشترین تعداد برگ در غلظت ۵۰ میلی

گرم بر لیتر NGO به‌دست آمد. در غلظت بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر (۷۵ میلی‌گرم بر لیتر گرافن اکسید) تعداد برگ نه تنها ثابت ماند بلکه روند کاهشی را نشان داد. بیشترین مقدار برای طول برگ، عرض برگ و وزن تر اندام هوایی در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO حاصل شد (شکل ۲).

غلظت‌های بالای GO ممکن است باعث استرس اسمزی قوی در سلول‌های گیاهی و از دست دادن آب و از بین رفتن گیاه شود. طی یک مطالعه غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر گرافن رشد و نمو گیاهان باقالا (*Vicia faba*) را مهار کرد (Pots *et al.*, 1999). GO با بهترین بازده در ۵۰ میلی‌گرم در لیتر، اثرات مثبتی بر رشد آلوئه ورا با افزایش ظرفیت فتوسنتزی برگ‌ها، افزایش عملکرد و ویژگی‌های مورفولوژیکی و بهبود محتوای مغذی (پروتئین و اسید آمینه) برگ‌ها داشته است (Zhang *et al.*, 2021).

تیمار NGO بر گیاه ذرت سبب افزایش وزن‌تر گیاه (شاخساره و ریشه) شد (Yin *et al.*, 2018). در مطالعه‌ای دیگر نانولوله‌های کربنی با تشکیل ریشه‌های اولیه سبب افزایش وزن‌ترگیاه گوجه‌فرنگی شد (Khodakovskaya *et al.*, 2013) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف نانوورقه گرافن‌اکسید بر صفات ریزازدیادی گیاه سیب‌زمینی رقم ‎'‎آگریا‎'‎

Table 1- The effect of different concentrations of graphene oxide nanoparticles on micro propagation traits of potato cv. Agria plants

غلظت‌های مختلف NGO Different concentrations of NGO (mg.l-1)	تعداد برگ Leaf number	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf diameter	طول شاخساره Shoot length	درصد ظهور شاخساره جانبی Percentage of lateral shoots emerging	وزن تر اندام هوایی Fresh weight of seedlings
0	19.85 c*	2.06 c	1.44 c	4 b	0.04 c	2.80 de
25	25.83 ab	2.92 b	2.20 b	5 a	0.96 a	3.13 c
50	33.48 a	3.31 b	2.92 a	5 a	0.76 a	4.30 b
75	30.69 b	3.83 a	3.20 a	5 a	0.08 ab	4.96 a

*در هر ستون میانگین‌های دارای حرف مشترک، براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

*Means in each column with the same letter are not significantly different at %5 of probability level using Duncan's multiple range test.

باتوجه به نتایج تجزیه واریانس اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف NGO با تیمار شاهد در تعداد شاخساره جانبی وجود داشت به طوری‌که حداکثر تعداد شاخساره جانبی در غلظت ۲۵ میلی‌گرم برلیتر NGO بدست آمد. همچنین غلظت‌های بالای ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر NGO تأثیر کمتری بر تعداد شاخساره جانبی داشت و با افزایش غلظت تعداد شاخساره به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف NGO بر طول شاخساره نشان داد که بین غلظت‌های مختلف NGO اختلاف معنی‌دار وجود نداشت و طول شاخساره ثابت ماند اما تفاوت بین تیمار شاهد با NGO معنی‌دار بود. بیشترین طول شاخساره در غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO حاصل شد.

غلظت پایین گرافن (۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) منجر به کاهش اندک طول شاخساره در کلم، گوجه فرنگی و اسفناج قرمز شد ولی در غلظت بالاتر (۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) سبب کاهش بیشتری در طول شاخساره شد (Begum *et al.*, 2011). با افزایش غلظت GO به ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تأثیر معنی‌داری در قطر ساقه گیاه گوجه‌فرنگی حاصل نشد (Guo *et al.*, 2021). غلظت‌های پایین نانولوله‌های کربنی (۱۰ و ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) سبب افزایش قابل ملاحظه‌ی در طول شاخساره دو رقم سیب‌زمینی مارفونا و سینورا شد (Jami *et al.*, 2018). در آزمایشی دیگر تیمار گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) با نانولوله‌های کربنی تک‌دیواره (SWCNT)[1] سبب افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه شد (Khodakovskaya *et al.*, 2009). این مطالعات با نتایج حاصل شده برای طول شاخساره در این آزمایش همخوانی و مطابقت دارد.

آزمایش دوم: تأثیر نانوورقه گرافن‌اکسید بر ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط درون شیشه‌ای

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲) سطوح مختلف NGO برای تمامی صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود اما متوسط طول‌جوانه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. همچنین نتایج مقایسه میانگین برای غلظت‌های مختلف NGO نشان داد که با افزایش NGO (غلظت‌های بالای ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) صفاتی نظیر؛ متوسط طول‌ریزغده، قطر ریزغده و تعداد ریزغده ثابت باقی مانده و حداکثر مقادیر این صفات در غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO حاصل شد (شکل ۳ و ۴).

1- Single Walled Carbon Nanotube

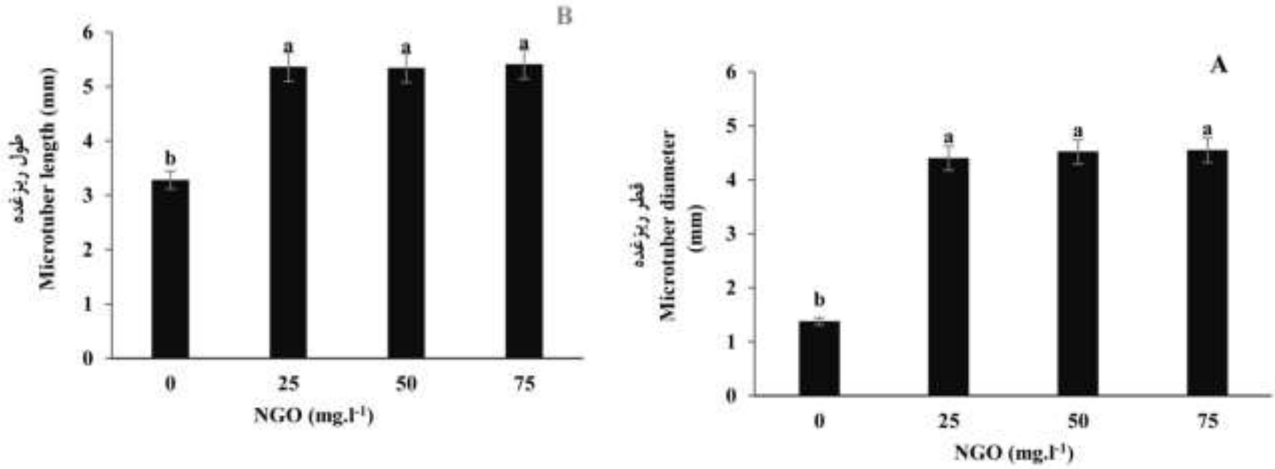


شکل ۲- گیاهچه‌های سیب‌زمینی رقم 'آگریا' تحت تیمار NGO در کشت درون شیشه‌ای

ریزنمونه در تیمار شاهد (A) ریزنمونه در محیط‌کشت با غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO (B) ریزنمونه در محیط‌کشت با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر NGO (C) ریزنمونه در محیط‌کشت با غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO (d).

Figure 2- The plantlets of potato cv. Agria treated with NGO in *in vitro* culture

Explant in the control (A), explant in medium with 25 mg.l^{-1} NGO (B), explant in the medium with 50 mg.l^{-1} NGO (C). explant in the medium with 75 mg.l^{-1} NGO (D).



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف NGO بر قطر (A) و طول ریزغده (B)

Figure 3- The effect of different concentrations of NGO on the microtuber length (A) and diameter (B) of potato cv. Agria (DMRT, $p \le 0.05$)

تاکنون در مقایسه با سایر نانومواد‌کربنی، مطالعات اندکی درباره تأثیر GO و NGO در کشاورزی صورت پذیرفته است و تنها تأثیر این مواد بر جوانه‌زنی، رشد گیاه و توسعه گونه‌های مختلف گیاهی ارزیابی شده است (Cheng *et al*., 2016). اخیرا تأثیر برخی نانوذرات بر غده زایی سیب‌زمینی مورد مطالعه قرار گرفته است.

پژوهش‌های گذشته با نانو ذرات مختلف بر روی ارقام مختلف سیب زمینی نشان داده‌اند که نانو ذرات می‌توانند در ریزازدیادی و ریزغده‌زایی این گیاه مؤثر باشند. به‌طور مثال استفاده از نانوذرات کبالت در ازدیاد درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی رقم سانتانا نشان داد که این ماده در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر به همراه ساکاروز هم در افزایش تعداد ریزغده و هم در تسریع ریزغده‌زایی مؤثر است (Hamza *et al*., 2019). همچنین نانوذرات نیترات نقره و دی اکسید تیتانیوم تأثیرات مثبتی در ریزغده‌زایی سه رقم مختلف سیب‌زمینی در شرایط درون‌شیشه‌ای داشته اند، هر چند که تأثیر این نانوذرات در ارقام مختلف متفاوت بوده است (Al-Jibouri *et al*., 2017). نتایج این آزمایشات حاکی از تفاوت تأثیر نانوذرات بر شاخص‌های مورد اندازه‌گیری می‌باشد که بسته به غلظت، زمان و گونه گیاهی متفاوت می‌باشد.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر کاربرد NGO بر صفات مورد مطالعه ریزغده‌زایی (آزمایش دوم) در سیب زمینی رقم 'آگریا'

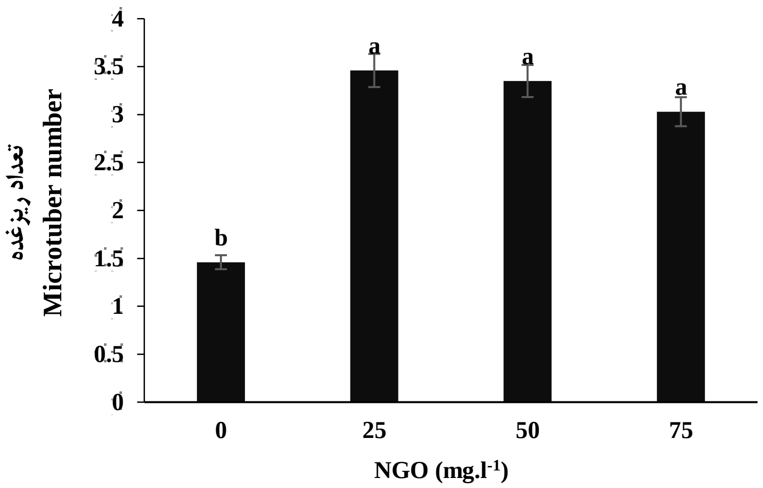
Table 2- ANOVA for NGO effect on the microtuber traits (experiment 2) of potato cv. Agria

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean squares: تعداد ریزغده microtuber number	طول ریزغده Microtuber length	قطر ریزغده Microtuber dimeter	وزن ریزغده Microtuber weight	چشم‌ها Eyes
NGO	3	14.022**	13.150**	38.660**	0.018**	512.381**
اشتباه آزمایشی Error	55	1.208	2.940	1.835	0.004	75.107
ضریب تغییرات (%) C.V.		14.2	28.2	18.8	20.3	8.8

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	Mean squares میانگین مربعات: طول جوانه Shoot length	عملکرد وزن ریزغده Microtuber weight	سرعت ریزغده‌زایی Microtuberization rate	ریزغده‌زایی Microtuberization	جوانه زنی Bud germination	ریزغده فاقد دورمانسی Non-dormant microtuber
NGO	3	4.092*	0.243**	12.005**	8471.430**	8758.737**	5478.108**
اشتباه آزمایشی Error	55	1.173	0.055	2.465	372.430	1838.638	1025.752
ضریب تغییرات (٪) C.V. (%)	-	30.3	27.9	13.1	31.9	16.7	27.4

** و * به‌ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

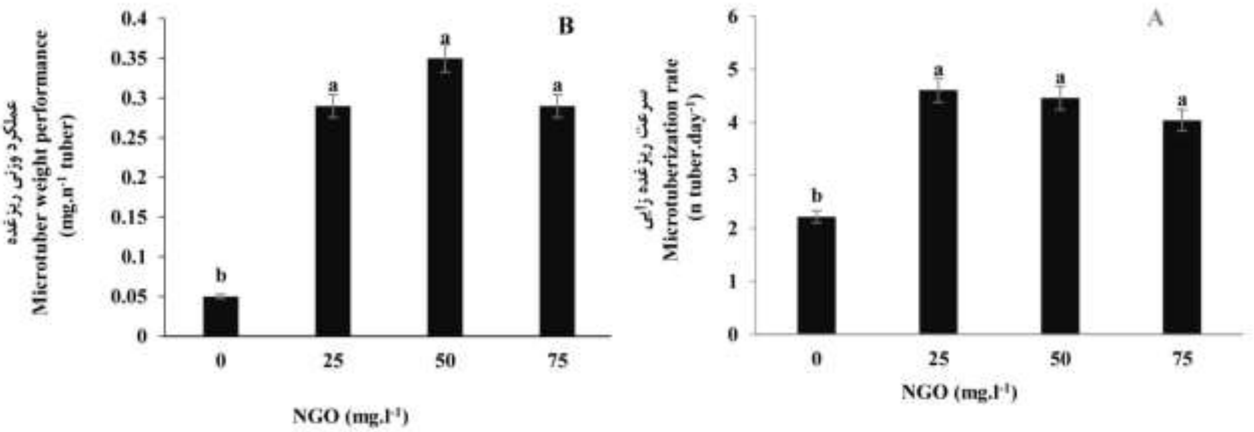
** and *: significant at p≤0.01 and p≤0.05, respectively.



شکل ٤- اثر غلظت‌های مختلف NGO بر تعداد ریزغده سیب‌زمینی رقم 'آگریا'

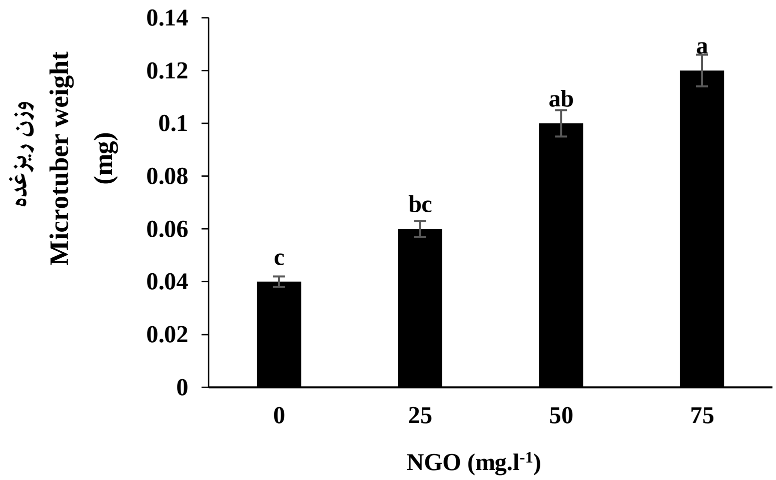
Figure 4-The effect of different concentrations of NGO on the number of microtuber of potato cv. Agria (DMRT, *p≤0.05*)

طبق نتایج مقایشه میانگین در شکل ۵، باافزایش غلظت NGO عملکرد وزن ریزغده و درصد ریزغده‌زایی ثابت می‌ماند. هرچند در مورد این صفات اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف NGO وجود ندارد، اما احتمال داده می‌شود که با افزایش غلظت NGO، هر دو صفت روند کاهشی را نشان دهند. بنابراین، به نظر می‌رسد مطلوب‌ترین غلظت NGO در خصوص این صفات ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر باشد.



شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف NGO بر سرعت ریزغده‌زایی (A) و عملکرد وزنی ریزغده (B) سیب زمینی رقم 'آگریا'

Figure 5- Effect of different concentrations of NGO on microtuberization rate (a) and microtuber weight performance (b) of potato cv. Agria (DMRT, *p≤0.05*)

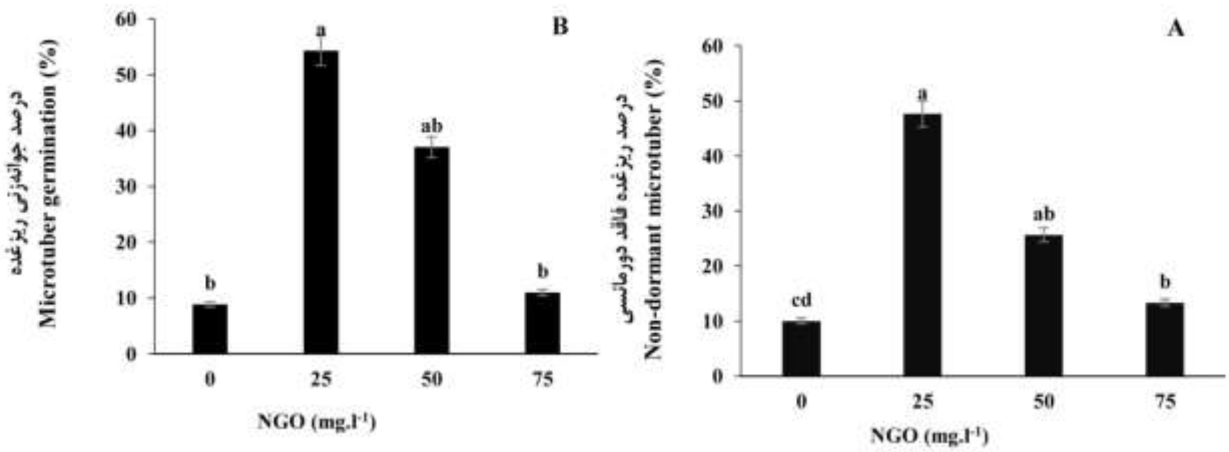


شکل ٦- اثر غلظت‌های مختلف NGO بر میانگین وزن ریزغده

Figure 6- The effect of different concentrations of NGO on the average microtuber weight of potato cv. Agria (DMRT, *p≤0.05*)

حداکثر میانگین وزن ریزغده نیز در غلظت‌های بالای NGO حاصل شد. به‌عبارتی با افزایش غلظت NGO متوسط وزن ریزغده نیز افزایش یافت و مطلوب‌ترین غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO برای وزن‌ریزغده بود (شکل ۶).

بررسی درصد جوانه‌زنی در این آزمایش، جوانه‌زنی حداقل یک ریزغده با یک جوانه حتی با تأخیر زمانی و ملاک ریزغده فاقد خواب عملکرد خواب غده می‌باشد که از جوانه‌زنی تمام ریزغده‌ها در تمام طول دوره غده‌زایی ممانعت می‌کند. افزایش غلظت NGO روند کاهشی را برای صفاتی از جمله؛ درصد ریزغده بدون خواب (تعداد ریزغده دارای جوانه بر تعداد کل ریزغده) و درصد جوانه‌زنی (ریزغده تعداد ریزغده تولیدی در هر واحد آزمایش بر مدت زمان لازم برای تشکیل ریزغده) در پی‌داشت. غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO بیشترین درصد جوانه‌زنی و ریزغده بدون خواب را نشان داد (شکل ۷). همچنین در غلظت بالای ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO هر دو صفت به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند که احتمال داده می‌شود مطلوب‌ترین سطح، غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO به‌منظور توسعه و تقویت این صفات باشد.



شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف NGO بر درصدریزغده بدون خواب (A) و درصد جوانه‌زنی ریزغده (B) سیب زمینی رقم 'آگریا'

Figure 6- The effect of different concentrations of NGO on microtuber non-dormant percentage (A) and microtuber germination percentage (B) of potato cv. Agria (DMRT, $p \leq 0.05$)

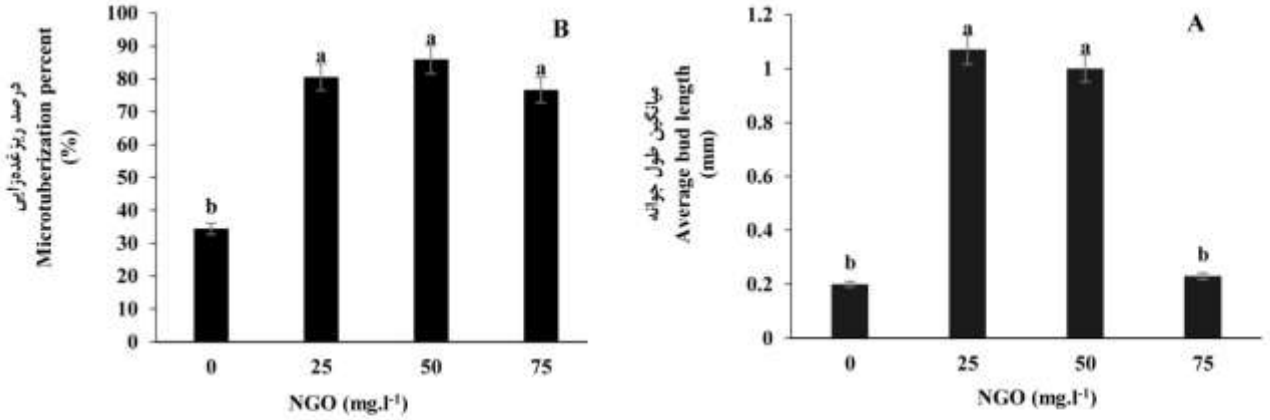
غلظت‌های پایین گرافن می‌تواند باعث افزایش جوانه‌زنی بذر شود. در حالی‌که در غلظت‌های بیشتر از ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، نانواکسید گرافن باعث کاهش سرعت و میزان جوانه‌زنی گیاه برنج شد (Nair *et al.*, 2012).

مکانیسمی که توسط آن جوانه‌زنی بذر افزایش می‌یابد ممکن است این باشد که GO قادر به نفوذ به پوسته بذر است و با این نفوذ ممکن است برای تسهیل جذب آب، پوسته‌ها را بشکند و در نتیجه جوانه‌زنی سریع بذر و درصد جوانه‌زنی بالاتری را به دنبال داشته باشد (He *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2021). گرافن به‌دلیل دارابودن گروه‌های عاملی اکسیژن‌دار می‌تواند از تبخیر آب جلوگیری نماید (Zhang *et al.*, 2020, 2021). بنابراین، گرافن می‌تواند ظرفیت آب گیاهان را افزایش داده و کارایی مصرف آب را بهبود بخشد. به همین دلیل، گرافن می‌تواند با افزایش رطوبت دانه‌ها، جوانه‌زنی بذر را افزایش دهد. غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر NGO جوانه‌زنی و شاخص رشدی گیاه لوبیا را توسعه بخشید (Anjum *et al.*, 2014). غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر GO نیز به‌طور قابل توجهی جوانه‌زنی بذر اسفناج و پیازچه را تحریک کرد (He *et al.*, 2018). مطالعات نشان داده است که گرافن می‌تواند جوانه‌زنی بذر گوجه‌فرنگی (Jiao *et al.*, 2016) و اسفناج (Forstner *et al.*, 2019) را تقویت کند. غلظت‌های پایین GO (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰میلی‌گرم در لیتر) به‌طور قابل توجهی جوانه‌زنی بذر *A. fruticosa* را افزایش داد (Liu *et al.*, 2022).

استفاده از خصوصیات آب‌دوستی و ویژگی انتقال آب NGO می تواند سبب تولید ریزغده با درصد جوانه‌زنی بالا شود. همچنین از همین خصوصیات NGO به‌منظور افزایش رشد و عملکرد اسفناج و پیاز کوهی در غلظت‌های پایین استفاده شد (Yijia *et al.*, 2017). در محصولاتی نظیر؛ کاهو[1]، تربچه[2]، ذرت[3] و خیار[4] دیگر گیاهان نانولوله‌های کربنی سبب شکستن خواب بذر می‌شوند (Lin & Xing, 2007). نتایج تحقیقات انجام شده با نتایج حاصل از تأثیر NGO بر تولید ریزغده فاقد دورمانسی و درصد جوانه‌زنی ریزغده با غلظت کم NGO در این پژوهش انطباق دارد. باتوجه به اینکه خواب بذر با جلوگیری از جوانه زنی بذرها، به‌طور حیرت‌انگیزی بذرها و نهال ها را از آسیب ناشی از دوره‌های کوتاه آب و هوای بد محافظت می‌کند احتمال داده می‌شود حضور NGO می‌تواند اثرات ممانعت کننده عوامل دخیل بر رشد ریشه و درصدجوانه‌زنی را کاهش دهد (Yin *et al.*, 2018).

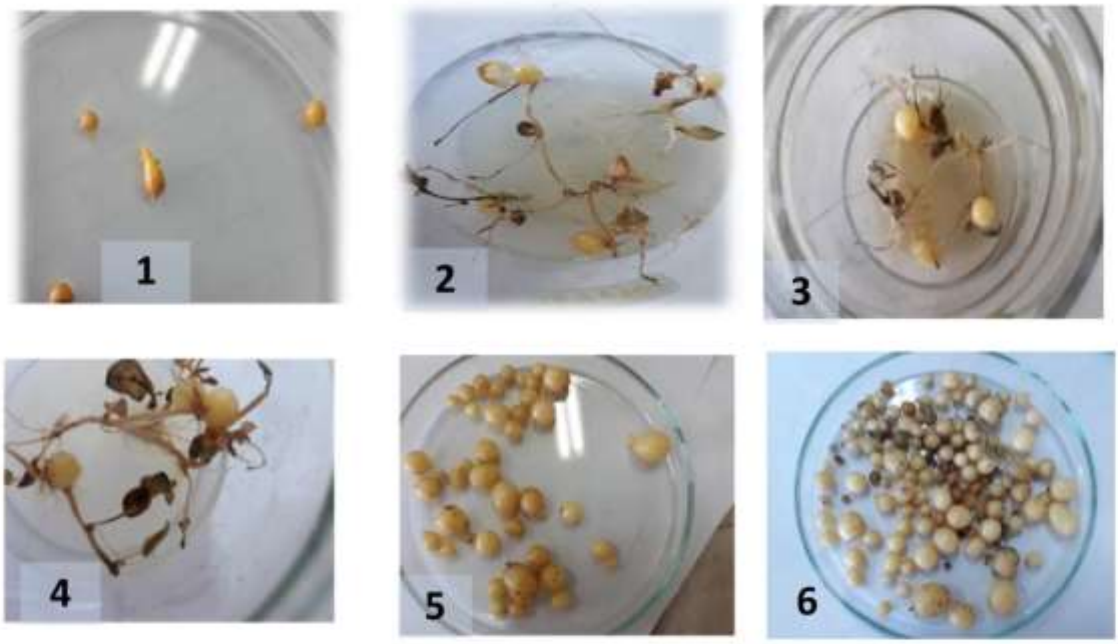
بیشترین درصد ریزغده‌زایی و میانگین طول‌جوانه در غلظت‌های پایین NGO حاصل شد به‌طوری‌که تا غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر متوسط طول‌جوانه ثابت بود و پس از آن به شکل معنی‌داری کاهش یافت. همچنین درصدریزغده‌زایی در غلظت‌های بالای ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر ثابت باقی ماند. بنابراین غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO بهترین حالت برای هر دو صفت مذکور می‌باشد (شکل ۸ و ۹).

1- *Lactuca sativa* L.
2- *Raphanus sativus* L.
3- *Zea mays*
4- *Cucumis sativus*



شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف NGO بر درصد ریزغده‌زایی و میانگین طول‌جوانه سیب‌زمینی رقم' آگریا'

Figure 8- The effect of different concentrations of NGO on the microtuber percentage and bud length of potato cv. Agria (DMRT, *$p \leq 0.05$*)



شکل ۹- ریزغده تولیدی در محیط کشت‌های مختلف: فاقد NGO (۱)، کاربرد NGO در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم برلیتر (به‌ترتیب، ۲، ۳ و ٤)، کل ریزغده‌های تولیدی در محیط‌کشت حاوی NGO (۵) و کل ریزغده‌های تولیدی طی آزمایش (٦)

Figure 9- Microtuber produced in the different media: without NGO (1), using 25, 50, and 75 $mg.l^{-1}$ of NGO (2, 3, and 4, respectively), total microtubers produced in the medium containing NGO (5), and total microtubers produced during the experiment (6)

نتایج آزمایش حاضر نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار NGO بر صفات مرتبط با پرآوری و عملکرد ریزغده‌های سیب‌زمینی رقم آگریا' تحت شرایط درون‌شیشه‌ای می‌باشد. در سایر مطالعات نیز استفاده از نانوذرات با تأثیر بر فرآیندهای رشدی گیاهان مختلف، نقش تعیین‌کننده‌ای در تولید گیاهان با رشد قوی و تولید ریزغده‌های سیب‌زمینی داشتند. از این رو، به‌نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر هر یک از عوامل مؤثر در پرآوری و ریزغده‌زایی یا مجموعه‌ای از آن‌ها موجب اثربخشی مثبت NGO بر صفات مرتبط با عملکرد ریزازدیادی و ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا' شده است. این اثربخشی با سنتز تنظیم کننده‌های رشد در غلظت بالا، نفوذ به پوسته بذر و تسهیل در فرآیند جذب آب (Khodakovskaya *et al.*, 2009) به داخل جنین بذر سبب تولید گیاهچه‌های قوی با خصوصیات رشدی بالا و ریزغده‌های با کیفیت و

عملکرد بالا می‌شود. این موضوع با توانایی نانوذرات مرتبط است اما سازوکار توانایی نانوذرات در جذب آب به درون بذر هنوز ناشناخته است. اکثر تحقیقات انجام شده بر گیاهان مختلف نیز نشان از برتری نانوذرات بخصوص نانولوله‌های کربنی بر تقویت خصوصیات رشدی گیاهان دارد که در این پژوهش نیز احتمالا گیاهچه‌های قوی تولید شده عامل کلیدی در تولید ریزغده‌های با کیفیت و خصوصیات کمی و کیفی باشند، زیرا مطالعات در خصوص تولید ریزغده با استفاده از نانولوله‌های کربنی بسیار کم بوده و یا انجام نشده است و این پژوهش با استفاده از NGO نخستین بار با این هدف انجام پذیرفت.

نانوذرات نقش بالقوه‌ای در حفاظت از محیط‌زیست ایفا می‌کنند، اما استفاده بیش از حد از آن‌ها سبب انباشت آن‌ها در محیط‌زیست می‌شود که ممکن است سمی باشد. با این حال، محققان به اهمیت مطالعات کامل‌تر برای ارزیابی کاربرد نانولوله‌های کربنی در گیاهان و همچنین ارزیابی اثرات سمی آن‌ها روی گیاهان تأکید دارند. محققان دریافتند که گرافن می‌تواند به سرعت از ریشه به شاخه و برگ‌ها منتقل شود (Huang *et al.*, 2018). جذب و انتقال نانو مواد به‌ترتیب از طریق آوند چوبی و آوند آبکش از ریشه به ساقه و از ساقه به ریشه انجام می‌شود. گرافن می‌تواند به دیواره سلولی، غشاء و داخل کلروپلاست برگ‌ها نفوذ کند و با کمک گروه هیدروکسیل OH^- در برگ‌ها تجزیه شود (Huang *et al.*, 2018). علاوه بر این، مشخص شده است که گرافن می‌تواند توسط میکروارگانیسم‌های موجود در محیط خاک تجزیه شود. محققان تأیید کرده‌اند که ساختار چند حلقه‌ای گرافن شبیه لیگنین و هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای است (Sheikhi *et al.*, 2014). جذب لیگنین و تجزیه آن با آنزیم‌های درون‌سلولی امکان‌پذیر نیست چون مستلزم تخریب از طریق کربن کایرال در دو پیکربندی L ، D می‌باشد (Sheikhi *et al.*, 2014). در حالی‌که قارچ White Rot برای تجزیه لیگنین از مکانیزم آنزیمی غیر اختصاصی عمل می‌نماید که خارج سلول است (Sheikhi *et al.*, 2014) بنابراین گرافن می‌تواند توسط برخی قارچها تجزیه کننده لیگنین، تجزیه شود (Lalwani *et al.*, 2014). این مطالعات برای از بین بردن درک عمومی از نگرانی های ایمنی در مورد استفاده از گرافن مهندسی شده در تولید کشاورزی مفید خواهد بود.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از NGO در غلظت‌های ۲۵ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر تأثیر کاملا مثبتی بر پرآوری و ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم 'آگریا' تحت شرایط درون‌شیشه‌ای دارد. تمامی صفات مورد مطالعه هر دو آزمایش در پاسخ به NGO در غلظت‌های یاد شده اثرات کاملا مثبت داشتند. با توجه به نتاج حاصل به‌نظر می‌رسد که بتوان NGO را به‌عنوان یک نانوذره بر پایه کربن جهت تولید گیاهچه‌های قوی و ریزغده‌های با عملکرد بالا معرفی و استفاده کرد. هرچند دستیابی به یک محیط کشت ایده‌آل نیازمند پژوهش و تحقیقات مستمر این نانوذره کربنی بر محصولات مختلف باغی، زراعی و به‌خصوص محصول سیب‌زمینی تحت شرایط درون‌شیشه‌ای می‌باشد.

References

1. Abelenda, J.A., Bergonzi, S., Oortwijn, M., Sonnewald, S., Du, M., Visser, R.G., & Bachem, C.W. (2019). Source-sink regulation is mediated by interaction of an FT homolog with a sweet protein in potato. *Current Biology*, *29*(7), 1178-1186.
2. Al-Jibouri, A.M.J., Abed, A.S., Hussin, Z.S., & Abdulhusein, A.A. (2017). Effect of nanoparticles on *in vitro* microtuberization of potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Biotechnology Research Center*, *11*(1), 57–61. https://doi.org/10.24126/jobrc.2017.11.1.504
3. Al-Safadi, B., Ayyoubi, Z., & Jawdat, D. (2000). The effect of gamma irradiation on potato microtuber production *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *61*(3), 183-187.
4. Anjum, N.A., Singh, N., Singh, M.K., Sayeed, I., Duarte, A.C., Pereira, E., & Ahmad, I. (2014). Single-bilayer graphene oxide sheet impacts and underlying potential mechanism assessment in germinating faba bean (*Vicia faba* L.). *Science of the Total Environment*, *472*, 834-841.
5. Begum, P., Ikhtiari, R., & Fugetsu, B. (2011). Graphene phytotoxicity in the seedling stage of cabbage, tomato, red spinach, and lettuce. *Carbon*, *49*(12), 3907-3919.
6. Bolandi, A.R., Hamidi, H., & Beidokhti, R. (2013). The effect of hormones and photoperiod on *in vitro* microtuberization of two potato cultivars. *Journal of Horticultural Science*, *27*(2), 158-165. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v0i0.24814
7. Chen, J., Yang, L., Li, S., & Ding, W. (2018). Various physiological response to graphene oxide and amine-functionalized graphene oxide in wheat (*Triticum aestivum*). *Molecules*, *23*(5), 1104.
8. Chen, L., Wang, C., Li, H., Qu, X., Yang, S.T., & Chang, X.L. (2017). Bioaccumulation and toxicity of 13C-skeleton labeled graphene oxide in wheat. *Environmental Science & Technology*, *51*(17), 10146-10153.

9. Chen, Z., Zhao, J., Qiao, J., Li, W., Guan, Z., Liu, Z., & Zhu, H. (2022). Graphene-mediated antioxidant enzyme activity and respiration in plant roots. *ACS Agricultural Science & Technology*, *2*(3), 646-660.
10. Cheng, F., Liu, Y.F., Lu, G.Y., Zhang, X.K., Xie, L.L., Yuan, C.F., & Xu, B.B. (2016). Graphene oxide modulates root growth of *Brassica napus* L. and regulates ABA and IAA concentration. *Journal of Plant Physiology*, *193*, 57-63.
11. Coleman, W.K., Donnelly, D.J., & Coleman, S.E. (2001). Potato microtubers as research tools: a review. *American Journal of Potato Research*, *78*, 47-55.
12. Delker, C., Raschke, A., & Quint, M. (2008). Auxin dynamics: the dazzling complexity of a small molecule's message. *Planta*, *227*, 929-941.
13. FAO. (2022). World food and agriculture – Statistical Ppchetbook. (2018). Rome. 254 pp. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
14. Forstner, C., Orton, T.G., Skarshewski, A., Wang, P., Kopittke, P.M., & Dennis, P.G. (2019). Effects of graphene oxide and graphite on soil bacterial and fungal diversity. *Science of the Total Environment*, *671*, 140-148.
15. Georgailas, V., Perman, J.A., Tucek, J., & Zboril, R. (2015). Broad family of carbon nanoallotropes: classifiation, chemistry, and applications of fullerenes, carbon dots, nanotubes, graphene, nanodiamonds, and combined superstructures. *Chemical reviews*, *115*(11), 4744-4822. https://doi.org/10.1021/cr500304f
16. Gopal, J., Chamail, A., & Sarkar, D. (2004). *In vitro* production of microtubers for conservation of potato germplasm: Effect of genotype, abscisic acid and sucrose. *Developmental Biology Plant*, *40*, 485-490.
17. Guo, X., Zhao, J., Wang, R., Zhang, H., Xing, B., Naeem, M., & Wu, J. (2021). Effects of graphene oxide on tomato growth in different stages. *Plant Physiology and Biochemistry*, *162*, 447-455. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.03.013
18. Hamza, E.M. (2019). Improvement of potato micropropagation and microtubers formation as affected by nanoparticles. *Middle East Journal*, *8*(2), 525-532.
19. He, Y., Hu, R., Zhong, Y., Zhao, X., Chen, Q., & Zhu, H. (2018). Graphene oxide as a water transporter promoting germination of plants in soil. *Nano Research*, *11*, 1928-1937.
20. Hoque, M.E. (2010). *In vitro* tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Omics Journal*, *3*, 7-11.
21. Hu, X., Mu, L., Kang, J., Lu, K., Zhou, R., & Zhou, Q. (2014). Humic acid acts as a natural antidote of graphene by regulating nanomaterial translocation and metabolic fluxes in vivo. *Environmental Science & Technology*, *48*(12), 6919-6927.
22. Huang, C., Xia, T., Niu, J., Yang, Y., Lin, S., Wang, X., & Xing, B. (2018). Transformation of 14C-Labeled Graphene to $14CO_2$ in the shoots of a rice plant. *Angewandte Chemie*, *130*(31), 9907-9911.
23. Jami, J.M., & Ghorbani, M. (2018). *The effect of carbon nanotubes on in vitro micropropagation of two potato (Solanum tuberosum L.) cultivars*. 4th Iranian Scientific Congress on Development and Promotion of Agricultural Sciences, Natural Resources and Environment of Iran.
24. Jiao, J., Cheng, F., Zhang, X., Xie, L., Li, Z., Yuan, C., & Zhang, L. (2016). Preparation of graphene oxide and its mechanism in promoting tomato roots growth. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, *16*(4), 4216-4223.
25. Kah, M., Tufenkji, N., & White, J.C. (2019). Nano-enabled strategies to enhance crop nutrition and protection. *Nature Nanotechnology*, *14*(6), 532-540.
26. Khodakovskaya, M.V., Kim, B.S., Kim, J.N., Alimohammadi, M., Dervishi, E., Mustafa, T., & Cernigla, C.E. (2013). Carbon nanotubes as plant growth regulators: effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community. *Small*, *9*(1), 115-123.
27. Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F., & Biris, A.S. (2009). Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS Nano*, *3*(10), 3221-3227.
28. Lalwani, G., Xing, W., & Sitharaman, B. (2014). Enzymatic degradation of oxidized and reduced graphene nanoribbons by lignin peroxidase. *Journal of Materials Chemistry B*, *2*(37), 6354-6362.3.
29. Lin, D., & Xing, B. (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*, *150*(2), 243-250.
30. Liu, D., Lü, Y., & Luo, H. (2022). Effects of oxidized graphene on seed germination and seedling growth of *Amorpha fruticose*. *Seed*, *41*, 14-18.
31. Liu, R., Zhao, M., Zheng, X., Wang, Q., Huang, X., Shen, Y., & Chen, B. (2021). Reduced graphene oxide/TiO_2 (B) immobilized on nylon membrane with enhanced photocatalytic performance. *Science of The Total Environment*, *799*, 149370.
32. Liu, S., Wei, H., Li, Z., Li, S., Yan, H., He, Y., & Tian, Z. (2015). Effects of graphene on germination and seedling morphology in rice. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, *15*(4), 2695-2701. https://doi.org/10.1166/jnn.2015.9254

33. Mahendran, D., Geetha, N., & Venkatachalam, P. (2019). Role of silver nitrate and silver nanoparticles on tissue culture medium and enhanced the plant growth and development. In *In vitro Plant Breeding towards Novel Agronomic Traits* (pp. 59-74). Springer, Singapore.
34. Mahmodi Soreh, S., Motallebi Azar, A., Panahandeh, J., Gohari, G., & Jahanian, A. (2023). Effect of glycine betaine nanocomposite coated with chitosan and moderate salinity stress on *in vitro* microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Agria. *Journal of Horticultural Science, 37*(2), 437-451. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.76343.1165
35. Maliki, R., & Mohammadi, M. (2017). *Application of nanotechnology in agriculture and food industry (case study of Sahar Hamedan Food Industry Company),* 11th National Congress of Biosystem Mechanical Engineering and Mechanization of Iran, Hamedan.
36. Møller, I.M., Jensen, P.E., & Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Rev. Plant Biology*, *58*, 459-481.
37. Nair, R.R., Wu, H.A., Jayaram, P.N., Grigorieva, I.V., & Geim, A.K. (2012). Unimpeded permeation of water through helium-leak–tight graphene-based membranes. *Science*, *335*(6067), 442-444.
38. Noh, S.A., Lee, H.S., Huh, E.J., Huh, G.H., Paek, K.H., Shin, J.S., & Bae, J.M. (2010). SRD1 is involved in the auxin-mediated initial thickening growth of storage root by enhancing proliferation of metaxylem and cambium cells in sweetpotato (*Ipomoea batatas*). *Journal of Experimental Botany*, *61*(5), 1337-1349.
39. Pots, A.M., Gruppen, H., van Diepenbeek, R., van der Lee, J.J., van Boekel, M.A.J.S., Wijngaards, G., & Voragen, A.G.J. (1999). The effect of storage of whole potatoes of three cultivars on the patatin and protease inhibitor content; a study using capillary electrophoresis and MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *79*(12), 1557-1564.
40. Pumera, M., Ambrosi, A., Bonanni, A., Chng, E.L.K., & Poh, H.L. (2010). Graphene for electrochemical sensing and biosensing. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *29*(9), 954-965.
41. Sasani, R., Khazaei, H.R., & Nezami, A. (2010). Effects of Gibberellin, Benzyl adenine, Zeatine hormones and temperature on dormancy breaking of potato minituber (*Solanum tuberosum*). *Journal of Horticultural Science*, *23*(2).
42. Sheikhi, F., Roayaei Ardakani, M., Enayatzamir, N., & Ghezelbash, G. (2014). Isolation and identification of two laccase producer fungi from bagass and sugarcane rhizosphere. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, *27*(3), 389-398.
43. Simm, S., Scharf, K.D., Jegadeesan, S., Chiusano, M.L., Firon, N., & Schleiff, E. (2016). Survey of genes involved in biosynthesis, transport, and signaling of phytohormones with focus on *Solanum lycopersicum*. *Bioinformatics and Biology insights*, *10*, BBI-S38425.
44. Wu, X.J., Wang, G.L., Song, X., Xu, Z.S., Wang, F., & Xiong, A.S. (2016). Regulation of auxin accumulation and perception at different developmental stages in carrot. *Plant Growth Regulation*, *80*, 243-251.
45. Yijia, H., Ruirui, H., Yujia, Z., Xuanliang, Z., Qiao, C., & Hongwei, Z. (2017). Graphene oxide as a water transporter promoting germination of plants in soil. *Nano Research*, 1–10.
46. Yin, L., Wang, Z., Wang, S., Xu, W., & Bao, H. (2018). Effects of Graphene Oxide and/or Cd 2+ on Seed germination, seedling growth, and uptake to Cd 2+ in solution culture. *Water, Air, & Soil Pollution*, *229*(5), 151.
47. Zhang, P., Guo, Z., Luo, W., Monikh, F.A., Xie, C., Valsami-Jones, E., & Zhang, Z. (2020). Graphene oxide-induced pH alteration, iron overload, and subsequent oxidative damage in rice (*Oryza sativa* L.): A new mechanism of nanomaterial phytotoxicity. *Environmental Science & Technology*, *54*(6), 3181-3190.
48. Zhang, X., Cao, H., Zhao, J., Wang, H., Xing, B., Chen, Z., & Zhang, J. (2021). Graphene oxide exhibited positive effects on the growth of *Aloe vera* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *27*, 815-824. https://doi.org/10.1007/s12298-021-00979-3